CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD5
Clone 4C7
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

English
Code IS082

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD5, Clone 4C7, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. The antibody labels CD5-positive cells and may be useful for the identification of B- and T-cell malignancies including B-cell chronic lymphoid leukemia (B-CLL), B-cell small lymphocytic lymphoma (B-SLL), mantle cell lymphoma (MCL) and T-cell lymphoma and leukemia (1-4). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonyms for antigen

Leu-1, Ly-1, Tp67 (3,5)

Summary and explanation

CD5 is a single-chain 67 kDa transmembrane glycoprotein. It is a member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of extracellular domain-like structures and is involved in signal transduction (6). Among normal cells, CD5 is weakly expressed on most immature T-cell precursors that are CD34 positive and is more intensely expressed on mature T lymphocytes. Additionally, CD5 is weakly expressed in a subset of normal B cells (3). In neoplastic tissues, CD5 is detected on B-cell lymphoproliferative disorders, including mantle cell lymphoma (MCL) and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia (SLL/CLL) (1-4). Other B-cell lymphomas such as marginal zone, follicular, diffuse large cell and lymphoblastic types exhibit little or no CD5 expression (1-4). The CD5 antigen is also detected in the majority of T-cell malignancies including 85% of T-cell acute lymphoblastic leukemias (ALL) (2,3). Antibodies to CD5 have been shown to be useful tools for the diagnosis and classification of B- and T-cell malignancies (1-4,7).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: 4C7 (4). Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen

Recombinant prokaryotic fusion protein corresponding to the external domain of the human CD5 molecule.

Specificity

Human CD5 molecule, 67 kDa.

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004) for 20 minutes at 97 ℃ followed by 5 minutes in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

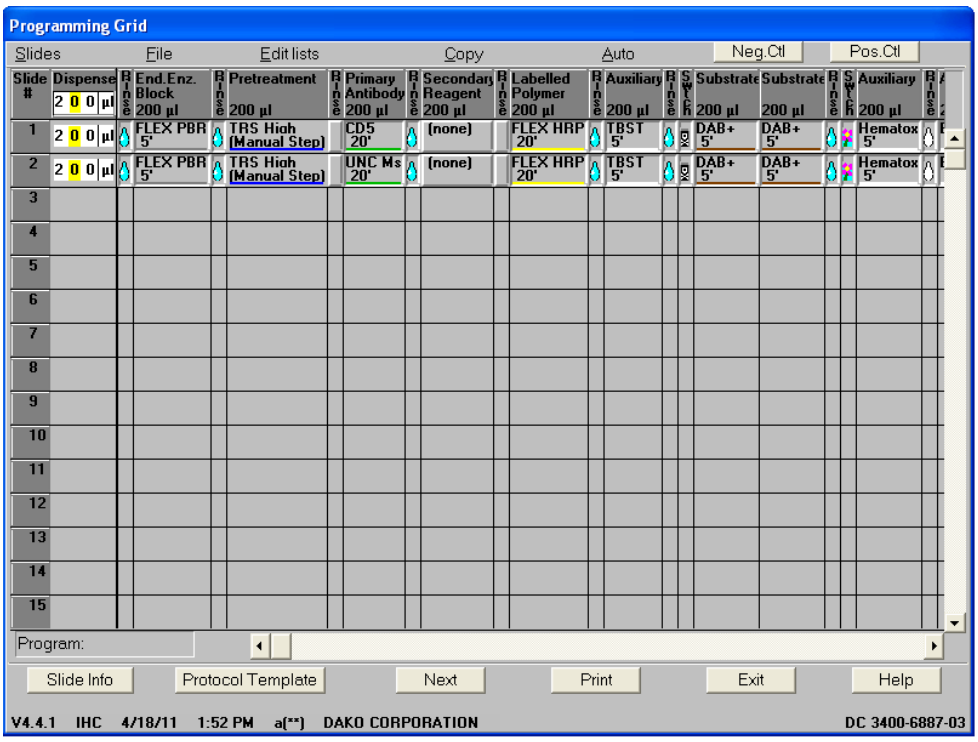
The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010/ K8024) used according to the protocol given below. Reagents must be appropriately diluted before use. All steps should be performed at room temperature (20-25 ℃).

1. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Code DM821) for 5 (±1) minutes
2. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1-5 minutes
3. Incubate tissue section with 200 µL Primary Antibody (Code IS082) for 20 (±1) minutes
4. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1-5 minutes
5. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX/HRP (Code DM822) for 20 (±1) minutes
6. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1-5 minutes
7. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 5 (±1) minutes
8. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1-5 minutes
9. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Codes DM823 and DM827) for 5 (±1) minutes
10. Rinse in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 1-5 minutes
11. Counterstain slide with EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code K8018) for 5 (±1) minutes
12. Rinse in deionized water for 1-5 minutes
13. Incubate tissue section with 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code K8007) for 5 (±1) minutes
14. Rinse in deionized water for 1-5 minutes
15. Mount slides with permanent mounting medium.

Programming grid for recommended assay:



All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

It is recommended that positive and negative controls be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation

The cellular staining pattern is membranous and/or cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal tissues: Among normal tissues, the antibody labels the membrane and sometimes the cytoplasm of lymphocytes in a variety of tissue types such as T cells of the paracortex and scattered germinal center cells in tonsil (4). The antibody also labels epithelia from various tissues, including breast epithelium and apocrine and deep dermal eccrine glands in the skin (8-10).

Abnormal tissues: Among B-cell small lymphoproliferative disorders, the antibody labeled the majority of small lymphocytic lymphomas/leukemias and mantle cell lymphomas (1,2,4,7,11). Other B-cell non-Hodgkin's lymphomas were mostly unreactive, including marginal zone lymphomas, follicular center cell lymphomas, diffuse large cell lymphomas, small non-cleaved cell and lymphoblastic lymphomas (1,2,4,7). The antibody labeled T-cell non-Hodgkin's lymphoblastic lymphoma, anaplastic large cell lymphoma and non-Hodgkin's lymphoma not otherwise specified (2). A number of non-hematopoeitic neoplasms were also labeled, such as breast carcinomas (54/86), cholangiocarcinomas (12/14), colon carcinomas (5/10), lung carcinomas (2/21), pancreatic carcinomas (6/13), prostate carcinomas (4/18) and thymic carcinomas (7/7) (9,10,12).

Français
Réf. IS082

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD5, Clone 4C7, prêt à l'emploi (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à être utilisé en immunohistochimie conjointement avec des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps marque les cellules CD5+ et peut être utile pour l'identification des malignités à cellules B et à cellules T, y compris la leucémie lymphoïde chronique B (LLC-B), le lymphome lymphocytaire à petites cellules B (B-cell small lymphocytic lymphoma, B-SLL), le lymphome du manteau (LM) ainsi que le lymphome et la leucémie à cellules T (1-4). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Synonymes de l'antigène

Leu-1, Ly-1, Tp67 (3,5)

Résumé et explication

Le CD5 est une glycoprotéine transmembranaire monocaténaire de 67 kDa. Il fait partie de la famille des SRCR (Scavenger Receptor Cysteine-Rich) des structures de même domaine extracellulaire et il est impliqué dans la transduction des signaux (6). Dans les cellules normales, le CD5 est faiblement exprimé sur la plupart des précurseurs des cellules T immatures CD34+ ; il est nettement plus exprimé sur les lymphocytes T matures. De plus, le CD5 est faiblement exprimé dans une sous-population de cellules B normales (3). Dans les tissus néoplasiques, le CD5 est détecté dans les syndromes lymphoprolifératifs à cellules B, y compris le lymphome du manteau (LM) et le lymphome lymphocytaire à petits lymphocytes B/la leucémie lymphocytaire chronique B (SLL/LLC) (1-4). D'autres lymphomes à cellules B, tels que les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes folliculaires, les lymphomes diffus à grandes cellules et les lymphomes lymphoblastiques présentent une faible expression ou ne présentent aucune expression du CD5 (1-4). L'antigène CD5 est également détecté dans la majorité des malignités à cellules T, comprenant 85 % des leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL) (2,3). Il a été montré que les anticorps dirigés contre le CD5 sont des outils utiles dans le cadre du diagnostic et de la classification des malignités à cellules B et à cellules T (1-4,7).

Se reporter au*x « Instructions générales de coloration immunohistochimique »* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : 4C7 (4). Isotype : IgG1, kappa.

Immunogène

Protéine de fusion procaryote recombinante correspondant au domaine externe de la molécule humaine CD5.

Spécificité

Molécule humaine CD5, 67 kDa.

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), un produit chimique hautement toxique sous sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et si un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Le prétraitement avec une restauration des épitopes par la chaleur (HIER) est nécessaire à l'aide du Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de l'EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004) pendant 20 minutes à 97 °C, suivies de 5 minutes dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007).

Coupes incluses en paraffine : Le prétraitement des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure 3 en 1 de préparation de l'échantillon pour Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de l'EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : Après la coloration, les sections doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

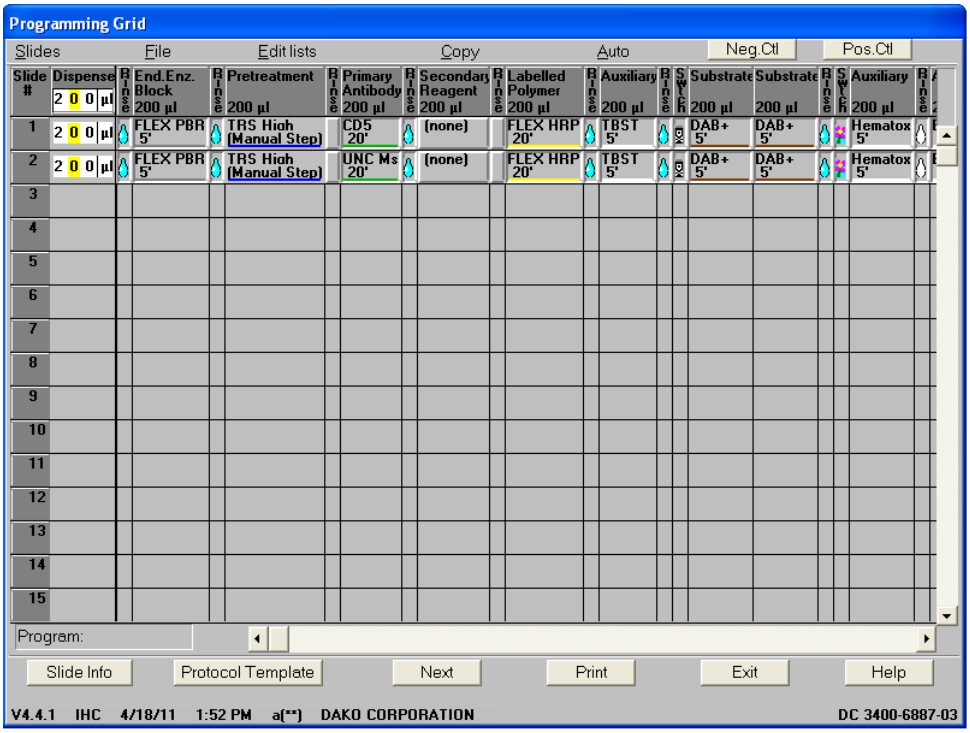
Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique qui suit. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames Dako Silanized Slides (Réf. S3003).

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le suivant : EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010/ K8024), utilisé conformément au protocole proposé ci-après. Les réactifs doivent être dilués de manière appropriée avant utilisation. Toutes les étapes doivent être réalisées à température ambiante (20-25 °C).

1. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL d'EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Réf. DM821) pendant 5 (±1) minutes
2. Rincer dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 1-5 minutes
3. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL de Primary Antibody (Réf. IS082) pendant 20 (±1) minutes
4. Rincer dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 1-5 minutes
5. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL d'EnVision™ FLEX/HRP (Réf. DM822) pendant 20 (±1) minutes
6. Rincer dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 1-5 minutes
7. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL d'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 5 (±1) minutes
8. Rincer dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 1-5 minutes
9. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL d'EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Réf. DM823 et DM827) pendant 5 (±1) minutes
10. Rincer dans de l'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 1-5 minutes
11. Procéder à une contre-coloration des lames avec de l'EnVision™ FLEX Hematoxylin (Réf. K8018) pendant 5 (±1) minutes
12. Rincer dans de l'eau déionisée pendant 1-5 minutes
13. Incuber les coupes de tissu avec 200 µL d'EnVision™ FLEX Wash Buffer (Réf. K8007) pendant 5 (±1) minutes
14. Rincer dans de l'eau déionisée pendant 1-5 minutes
15. Monter les lames avec un milieu de montage permanent

Grille de programmation du dosage recommandé :



Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration comportant 10 lames ou moins. Pour les cycles de coloration comportant plus de 10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela garantit des temps de lavage comparables.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation. Elles doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation souhaite une intensité de coloration différente, un spécialiste technicien Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la reprogrammation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en s'assurant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration dans de l'hématoxyline à l'aide d'EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Il est recommandé de procéder à des contrôles positifs et négatifs en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le tissu de contrôle positif doit comprendre l'amygdale et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction semblables à ceux décrits pour ce tissu à la section « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire est membranaire et/ou cytoplasmique.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : Dans les tissus sains, l'anticorps marque la membrane et quelques fois le cytoplasme des lymphocytes présents dans divers types de tissus, par exemple les lymphocytes T du paracortex et les cellules disséminées des centres germinatifs dans l'amygdale (4). L'anticorps marque également les épithéliums de divers tissus, dont l'épithélium mammaire, ainsi que les glandes sudoripares et les glandes eccrines du derme profond (8-10).

Tissus tumoraux : Parmi les syndromes lymphoprolifératifs à cellules B, l'anticorps a marqué la majorité des lymphomes leucémies à petits lymphocytes et des lymphomes du manteau (1,2,4,7,11). D'autres lymphomes non hodgkiniens à lymphocytes B se sont avérés globalement non réactifs, y compris les lymphomes de la zone marginale, les lymphomes centrofolliculaires, les lymphomes diffus à grandes cellules, les lymphomes à petites cellules non clivées et lymphoblastiques (1,2,4,7). L'anticorps a marqué les lymphomes lymphoblastiques non hodgkiniens à cellule T, les lymphomes anaplasiques à grandes cellules et les lymphomes non hodgkiniens non précisés (2). Un certain nombre de néoplasmes non hématopoïétiques a également été marqué, par exemple des carcinomes mammaires (54/86), des cholangiocarcinomes (12/14), des carcinomes coliques (5/10), des carcinomes pulmonaires (2/21), des carcinomes pancréatiques (6/13), des carcinomes prostatiques (4/18) et des carcinomes thymiques (7/7) (9,10,12).

Deutsch
Code-Nr. IS082

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD5, Klon 4C7, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), ist zur Verwendung mit den Geräten Dako Autostainer/Autostainer Plus in der Immunhistochemie bestimmt. Der Antikörper markiert CD5-positive Zellen und kann zur Identifikation von B- und T-Zellmalignomen dienen, darunter chronische lymphatische B-Zellleukämie (B-CLL), kleinzelliges lymphozytisches B-Zelllymphom (B-SLL), Mantelzelllymphome (MCL) und T-Zell-Lymphome sowie Leukämie (1–4). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen mit geeigneten Kontrollen ergänzt und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Synonyme für das Antigen

Leu-1, Ly-1, Tp67 (3,5)

Zusammenfassung und Erklärung

CD5 ist ein einkettiges 67-kDa-Transmembran-Glykoprotein. Es gehört zur SRCR-Proteinfamilie (scavenger receptor cysteine-rich family of extracellular domain-like structures) und ist an der Signalübertragung beteiligt (6). Bei normalen Zellen wird CD5 auf den meisten unreifen, CD34-positiven T-Zellvorläufern schwach exprimiert und auf reifen T-Lymphozyten stärker exprimiert. Darüber hinaus wird CD5 in einer Untergruppe normaler B-Zellen schwach exprimiert (3). In neoplastischem Gewebe wird CD5 auf B-Zellen mit lymphoproliferativen Störungen nachgewiesen, darunter Mantelzelllymphome (MCL) und kleinzelliges lymphozytisches B-Zelllymphom/chronische lymphatische B-Zellleukämie (SLL/CLL) (1–4). Andere B-Zelllymphome wie Marginalzonen-, follikuläre, diffuse großzellige und lymphoblastische Typen zeigen wenig oder keine CD5-Expression (1-4). Das CD5-Antigen lässt sich auch in der Mehrzahl der T-Zellmalignome nachweisen, einschließlich 85 % der akuten T-Zell-Lymphoblastenleukämien (ALL) (2,3). Antikörper gegen CD5 unterstützen die Diagnose und Klassifikation von B- und T-Zellmalignomen (1–4,7).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Klon: 4C7(4). Isotyp: IgG1, Kappa.

Immunogen

Rekombinantes prokaryotisches Fusionsprotein, der externen Domäne des humanen CD5-Moleküls entsprechend.

Spezifität

Humanes CD5-Molekül, 67 kDa.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Für Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend den einschlägigen gesetzlichen Regelungen von Bund, Ländern und Gemeinden zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Flä schchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Es ist eine Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER-Verfahren) mit dem Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können erzielt werden durch 20-minütige Vorbehandlung der Gewebe bei 97 ℃ mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004), gefolgt von 5 Minuten in EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007).

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Fixiermedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

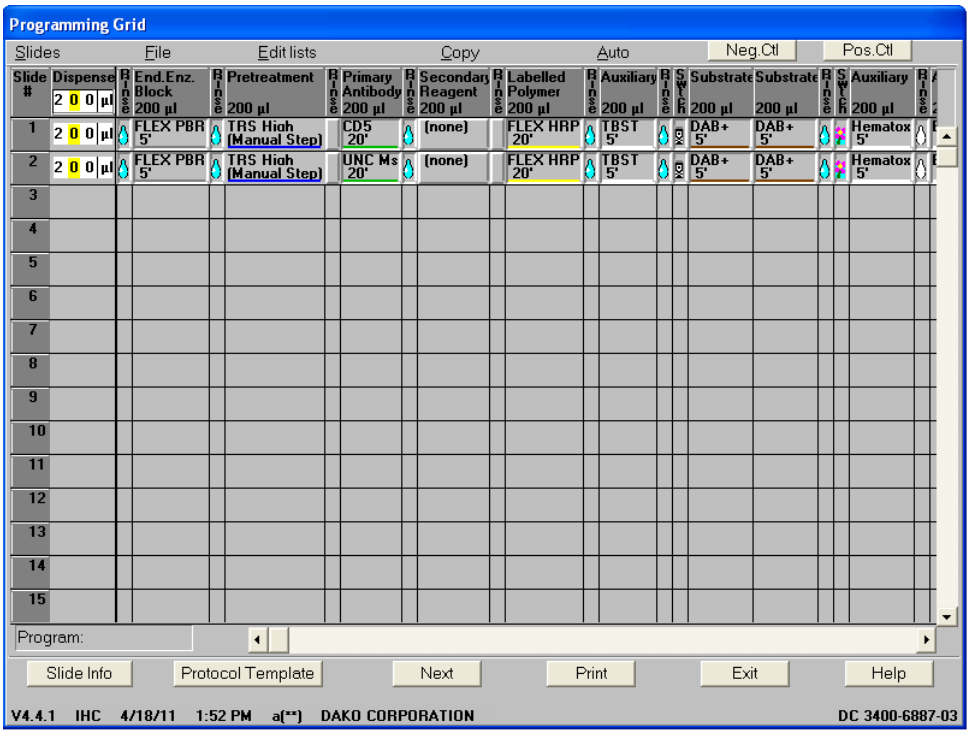
Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Als Visualisierungssystem wird EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010/K8024) empfohlen. Zu verwenden gemäß dem unten aufgeführten Protokoll. Die Reagenzien müssen vor der Verwendung entsprechend verdünnt werden. Alle Schritte sollten bei Zimmertemperatur (20-25 ℃) durchgeführt werden.

1. Gewebeschnitt mit 200 µL EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (Code-Nr. DM821) 5 (±1) Minuten inkubieren.
2. Mit EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 1–5 Minuten abspülen.
3. Gewebeschnitt mit 200 µL Primary Antibody (Code-Nr. IS082) 20 (±1) Minuten inkubieren.
4. Mit EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 1–5 Minuten abspülen.
5. Gewebeschnitt mit 200 µL EnVision™ FLEX/HRP (Code-Nr. DM822) 20 (±1) Minuten inkubieren.
6. Mit EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 1–5 Minuten abspülen.
7. Gewebeschnitt mit 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 5 (±1) Minuten inkubieren.
8. Mit EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 1–5 Minuten abspülen.
9. Gewebeschnitt mit 200 µL EnVision™ FLEX Substrate Working Solution (Code-Nr. DM823 und DM827) 5 (±1) Minuten inkubieren.
10. Mit EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 1–5 Minuten abspülen.
11. Objektträger mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code-Nr. K8018) 5 (±1) Minuten gegenfärben.
12. Mit entionisiertem Wasser 1–5 Minuten abspülen.
13. Gewebeschnitt mit 200 µL EnVision™ FLEX Wash Buffer (Code-Nr. K8007) 5 (±1) Minuten inkubieren.
14. Mit entionisiertem Wasser 1–5 Minuten abspülen.
15. Objektträger mit permanentem Fixiermittel fixieren.

Programmierraster für empfohlenes Assay:



Alle Inkubationsschritte sollten bei Zimmertemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Bei Färbedurchläufen mit 10 oder weniger Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Pufferspülgang“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den Zusatz-Schritt auf „Keine“ einstellen. Dies sorgt für vergleichbare Waschzeiten.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale“ beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Code-Nr. K8018) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Es wird empfohlen, Positiv- und Negativkontrollen zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben zu testen. Als positive Kontrolle sollte Mandelgewebe verwendet werden, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Als Negativkontrolle wird FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750) empfohlen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster ist membranös und/oder zytoplasmatisch.

Leistungsmerkmale

Gesunde Gewebe: In gesundem Gewebe markiert der Antikörper die Membran und manchmal das Zytoplasma von Lymphozyten, die in verschiedenen Arten von gesundem Gewebe vorhanden sind, wie z. B. T-Zellen des Paracortex und vereinzelte Keimzentrumzellen in den Mandeln (4). Der Antikörper markiert zudem Epithel von verschiedenen Geweben, einschließlich Brustepithel sowie apokrine und tief in der Haut liegende ekkrine Drüsen (8–10).

Pathologisches Gewebe: Bei B-Zellen mit lymphoproliferativen Störungen markierte der Antikörper die Mehrzahl kleinzelliger lymphozytischer Lymphome/Leukämien und Mantelzelllymphome (1,2,4,7,11). Andere B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphome zeigten zumeist keine Reaktion, einschließlich Marginalzonen- und Follikelzentrum-Lymphome, diffuse großzellige, kleinzellige ungekerbte und lymphoblastische Lymphome (1,2,4,7). Der Antikörper markierte lymphoblastische Non-Hodgkin-Lymphome des T-Zell-Typs, anaplastische Großzell-Lymphome und nicht näher spezifizierte Non-Hodgkin-Lymphome (2). Eine Reihe nicht hämatopoetischer Neoplasmen wurden ebenfalls markiert, beispielsweise Mammakarzinome (54/86), Gallengangkarzinome (12/14), Kolonkarzinome (5/10), Lungenkarzinome (2/21), Pankreaskarzinome (6/13), Prostatakarzinome (4/18) und Thymuskarzinome (7/7) (9,10,12).

References/ Bibliographie/ Literaturhinweise

1. Diaz de Leon E, Alkan S, Huang JC, Hsi ED. Usefulness of an immunohistochemical panel in paraffin-embedded tissues for the differentiation of B-cell non-Hodgkin’s lymphomas of small lymphocytes. Mod Pathol 1998;11:1046-51.
2. Dorfman DM, Shahsafaei A. Usefulness of a new CD5 antibody for the diagnosis of T-cell and B-cell lymphoproliferative disorders in paraffin sections. Mod Pathol 1997;10:859-63.
3. Arber DA, Weiss LM. CD5 a review. Appl Immunohistochem 1995;3:1-22.
4. Watson P, Wood KM, Lodge A, McIntosh GG, Milton I, Piggott NH, et al. Monoclonal antibodies recognizing CD5, CD10 and CD23 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: production and assessment of their value in the diagnosis of small B-cell lymphoma. Histopath 2000;36:145-50.
5. Lozano F, Calvo J, Roca A, Places L and Simarro M. TC6 CD5 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Sixth international workshop and conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 1112-3.
6. Lozano F, Calvo J, Roca A, Places L and Simarro M. TC6 CD5 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Sixth international workshop and conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 56-8.
7. Kaufmann O, Flath B, Spath-Schwalbe E, Possinger K, Dietel M. Immunohistochemical detection of CD5 with monoclonal antibody 4C7 on paraffin sections. Am J Clin Pathol 1997;108:669-73.
8. Bogner PN, Su LD, Fullen DR. Cluster designation 5 staining of normal and non-lymphoid neoplastic skin. J Cutan Pathol 2005;32:50-4.
9. Tateyama H, Eimoto T, Tada T, Hattori H, Murase T, Takino H. Immunoreactivity of a new CD5 antibody with normal epithelium and malignant tumors including thymic carcinoma. Am J Clin Pathol 1999;111:235-40.
10. Walsh R, Peston D, Shousha S. Comparison of immunoperoxidase staining of 3 different types of CD5 antibodies in a spectrum of breast lesions. Arch Pathol Lab Med 2001;125:781-4.
11. Rossi S, Laurino L, Furlanetto A, Chinellato S, Orvieto E, Canal F, et al. Rabbit monoclonal antibodies: a comparative study between a novel category of immunoreagents and the corresponding mouse monoclonal antibodies. Am J Clin Pathol 2005;124:1-8.
12. Chu PG, Arber DA, Weiss LM. Expression of T/NK-cell and plasma cell antigens in nonhematopoietic epithelioid neoplasms. In immunohistochemical study of 447 cases. Am J Clin Pathol 2003;120:64-70.

REF Catalogue number / Référence du catalogue / Bestellnummer	Temperature limitation / Limites de température / Zulässiger Temperaturbereich	Consult instructions for use / *Consulter les instructions d'utilisation* / *Gebrauchsanweisung beachten*
Manufacturer / Fabricant / Hersteller	LOT Batch code / Code du lot / Chargenbezeichnung	Use by / Utiliser jusque / Verwendbar bis
EC REP Authorized representative in the European Community / Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne / Autorisierter Repräsentant in der EU		IVD In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum

PT0039/Rev C

Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA
Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark
Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

Edition 05/11